

Mestrado Integrado em Medicina

Dissertação | Artigo de Revisão Bibliográfica

Ano lectivo 2013/ 2014

ABORTO RECORRENTE: NOVAS ABORDAGENS

Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Medicina,
submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da
Universidade do Porto

Nome: Joana Alexandrina Esteves Carvalhido

Afiliação: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar

Orientadora: Dra. Rosa Zulmira Rocha Pereira Vaz de Macedo

Categoria: Assistente Hospitalar Graduada / Assistente
convidada (aulas práticas de Obstetrícia)

Afiliação: Centro Hospitalar do Porto/ Instituto de Ciências
Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto

ÍNDICE

Lista de abreviaturas	3
Índice de tabelas	3
Resumo	4
Abstract	5
1. Introdução	6
2. Epidemiologia	7
3. Causas de aborto recorrente e suas respectivas abordagens	8
3.1. Causas genéticas	8
3.1.2. Abordagem das causas genéticas	9
3.2 Causas estruturais/ anomalias anatômicas	9
3.2.1 Abordagem das causas estruturais/ anomalias anatômicas	10
3.3. Causas endócrinas	11
3.3.1. Diabetes e disfunção tireoideia	11
3.3.2. Alterações da prolactina	12
3.3.3. Síndrome do ovário poliquístico (SOP)	12
3.3.4. Obesidade	12
3.3.5. Alterações na fase lútea e deficiência de progesterona	13
3.4. Causas Infeciosas	13
3.5. Causas imunológicas	14
3.5.1. Células <i>natural killer</i> (NK)	14
3.5.2. Células T	15
3.5.3. Fator estimulante de colônias de granulócitos (G-CSF)	15

3.6. Síndrome de anticorpos antifosfolípidos (SAAF)	16
3.6.1. Abordagem/ tratamento do SAAF	17
3.7. Trombofilias	18
3.7.1 Abordagem e tratamento das trombofilias	19
4. Alterações vasculares associadas ao AR	20
5. AR inexplicável	21
6. Conclusão	22
7. Bibliografia	24

Lista de Abreviaturas

AAS – ácido acetilsalicílico

aCL - anticorpo anticardiolipina

AR – aborto recorrente

β -2-GP1 - anticorpo anti β -2-glicoproteína 1

G-CSF – factor estimulador do crescimento de colónias de granulócitos

hCG – gonadotrofina coriónica humana

IP – índice de pulsatilidade

LES – lúpus eritmatoso sistémico

LH – hormona luteinizante

MTHFR - metilenotetrahidrofolato redutase

Nk – natural killer cells

RPCA – Resistência à proteína C activada

SAAF – Síndrome de anticorpos antifosfolípidos

SOP – síndrome do ovário poliquístico

SPOMMF – sociedade portuguesa de obstetrícia e medicina materno fetal

TNF – factor de necrose tumoral

Índice de tabelas

	Página
Tabela 1 - Risco de aborto de acordo com a idade gestacional	7
Tabela 2 – risco de aborto de acordo com a idade materna	7
Tabela 3 - Risco de aborto de acordo com a história obstétrica	8

Resumo

Introdução: O aborto recorrente é definido como a existência de três ou mais perdas espontâneas consecutivas da gravidez antes da 22ª semana de gestação, e atinge cerca de 1% dos casais, e, só em 50% dos casos é que é possível identificar uma causa associada. A idade materna e o número de perdas anteriores são os dois factores de risco independentes mais preditivos de uma nova perda.

Objectivos: No presente trabalho pretende-se fazer uma revisão bibliográfica, visando principalmente as mais recentes abordagens do aborto recorrente, tendo como base a informação científica mais actualizada.

Métodos: Pesquisa e recolha de informação científica em artigos publicados em revistas científicas da área da ginecologia e obstetrícia e da imunologia.

Desenvolvimento: Nos últimos anos, o progresso nas áreas da imunologia e citogenética, assim como uma maior compreensão dos fenómenos da implantação e da interação mãe-embrião, proporcionou um maior número de possíveis causas do aborto recorrente, abrindo assim novas abordagens na prevenção e tratamento. Tradicionalmente os factores implicados no aborto recorrente podem ser genéticos/ cromossómicos, estruturais, de origem infecciosa, endócrina, imune, ou de natureza idiopática. Estudos mais recentes demonstram que as trombofilias, as alterações imunológicas e vasculares também podem estar implicadas e podem explicar causas de aborto recorrente até aqui catalogadas como inexplicáveis/idiopáticas.

Conclusões: Apesar de muito já se ter descoberto sobre este tema, alguns aspectos (incluindo causas, investigação e tratamento) ainda estão rodeados de alguma controvérsia, são necessários mais estudos para que se possa confirmar ou excluir o seu papel na abordagem de um casal com história de aborto recorrente

Palavras-chave: gravidez; aborto recorrente; genética; epidemiologia; imunologia; SAAF; trombofilias; tratamento

Abstract

Introduction: Recurrent miscarriage is defined as the presence of three or more spontaneous pregnancy losses before 22 weeks gestation, and affects about 1 % of couples, and only in 50% of cases is it possible to identify a cause associated . Maternal age and number of previous losses are both independent risk factors most predictive of a new loss.

Objectives: In the present work we intend to do a literature review, mainly targeting the most recent approaches to recurrent miscarriage, based on the most current scientific information.

Methods: Research of scientific information from articles published in scientific journals in the field of obstetrics and gynecology and immunology.

Development: In recent years, progress in the areas of immunology and cytogenetics, as well as a greater understanding of the phenomena of deployment and mother -embryo interaction, provided a greater number of possible causes of recurrent miscarriage, thus opening up new approaches in the prevention and treatment. Traditionally the factors involved in recurrent miscarriage may be genetic / chromosomal, structural, infectious , endocrine , immune origin, or idiopathic in nature. More recent studies show that thrombophilia, immunological and vascular changes may also be involved and may explain causes of recurrent abortion even catalogued as unexplained / idiopathic.

Conclusions: Although we have already discovered a lot on this topic, some aspects (including causes, investigation and treatment) are still surrounded by some controversy, more studies are needed so that we can confirm or exclude its role in a couple approach history of recurrent miscarriage

Keywords: pregnancy; recurrent miscarriage; genetics; immunology; SAAF; thrombophilia; therapy

1. Introdução

A reprodução humana é caracterizada pela sua ineficiência. Estima-se que 30% das concepções humanas são perdidas antes da implantação e, mais de 30% após a implantação, mesmo antes da falta período menstrual, o que corresponderá à terceira ou quarta semana de gestação. Estas são frequentemente denominadas por perdas pré-clínicas. As perdas tardias ocorrem entre as 12 e as 22 semanas de gestação e são menos frequentes, representando cerca de 4% dos casos (Larsen et al, 2013).

De acordo com a *Sociedade Portuguesa de Obstetrícia e Medicina Materno Fetal* (SPOMMF), o aborto recorrente (AR) é definido como a existência de três ou mais perdas espontâneas consecutivas da gravidez antes da 22ª semana de gestação. É uma situação multifactorial e heterogênea que atinge cerca de 1% dos casais, prevalência mais elevada do que a esperada pelo acaso (0.34%). Muitos médicos consideram o aborto como recorrente a partir da segunda perda consecutiva, o que aumenta a dimensão do problema de 1% para 5% dos casais. (Raj Rai et al, 2006).

O AR é uma experiência traumática, que pode conduzir a sintomas de depressão, ansiedade, baixa auto-estima, assim como a outras consequências psicossociais (Serrano F et al, 2006).

Perante uma situação de AR deve ser feita uma avaliação cuidada ao casal que pretende engravidar, colhendo uma história clínica completa que inclua as suas idades, antecedentes obstétricos, ginecológicos, genéticos e médico-cirúrgicos, assim como a história familiar/social e um exame físico detalhado.

O risco de AR é tanto mais elevado quanto maior a idade materna e quanto menor a idade gestacional, pelo que ocorre geralmente no 1º trimestre de gravidez (Raj Rai et al, 2006).

O comportamento reprodutivo da nossa sociedade mudou, muitas mulheres optam por adiar a gravidez, o que faz com que esta problemática se evidencie, estimulando assim pesquisa de novas causas e novas abordagens.

.

2. Epidemiologia

A idade materna e o número de perdas anteriores são os dois factores de risco independentes mais preditivos de uma nova perda gestacional. O avanço da idade materna está associado não só ao declínio da quantidade mas também da qualidade dos ovócitos. De acordo com um estudo prospectivo realizado entre 1978/92 na Dinamarca o risco de aborto associado à idade materna, em gravidezes clinicamente reconhecidas é de: 13% aos 12-19 anos; 11% dos 20-24 anos; 12% aos 25-29 anos; 15% aos 30-34; 25% aos 35-39 anos; 51% aos 40-44 anos e de 93% \geq 45 anos (Nybo et al. 2000). A idade paterna avançada também foi também identificada como um fator de risco. O risco de AR é maior nos casais em que a mulher tem \geq 35 anos e o homem \geq 40 anos. (Rochebrochard et al, 2002).

O risco de AR será tanto maior quanto o número de perdas sucessivas, atingindo cerca de 40% após a terceira perda. O prognóstico piora com o aumento concomitante da idade materna. O facto de já ter tido um bebé viável não exclui o diagnóstico de AR. (Nybo et al, 2000).

Idade gestacional	Risco de aborto (%)
< 6 semanas	22-57
6 – 10 semanas	15
> 10 semanas	2-3

Tabela 1 – Risco de aborto de acordo com a idade gestacional (Niekerk et al, 2013)

Idade materna à data da concepção (anos)	Risco de aborto (%)
20 - 24	11
25 - 29	12
30 - 34	15
35 - 39	25
40 - 44	51
\geq 45	75

Tabela 2 – risco de aborto de acordo com a idade materna (Niekerk et al, 2013)

Gravidezes consecutivas	Risco de aborto (%)
primeira gravidez	5 - 13
após 1ª perda	14 – 21
após 2ª perda	24 – 29
após 3ª perda	31 - 45

Tabela 3 – Risco de aborto de acordo com a história obstétrica (Niekerk et al, 2013)

3. Causas de aborto recorrente e suas respectivas abordagens

3.1. Causas genéticas

A aneuploidia fetal é a causa mais importante de aborto espontâneo antes das 10 semanas de gestação. Cerca de 50-60% de todos os erros estão associados a anormalias citogenéticas, sendo a trissomia a mais frequente, seguida da poliploidia e monossomia do cromossoma X. A maioria das aneuploidias humanas surgem devido a erros ocorridos na primeira divisão meiótica do ovócito. O risco de aneuploidia será tanto maior quanto maior a idade materna. (Raj Rai et al, 2006)

Numa metanálise demonstrou-se uma significativa relação entre os níveis de danos do DNA do esperma e a perda espontânea da gravidez. (Lynne et al, 2012). No entanto, as análises convencionais do esperma podem ter resultados normais na presença de elevados níveis de danos no DNA. Como tal, são necessários testes mais específicos para avaliar danos no DNA, assim como mais pesquisas sobre os mecanismos responsáveis (Simon L. et al, 2010). Este estudo do elemento masculino do casal também deve estar incluído na abordagem do casal com AR (Lynne et al, 2012).

Em cerca de 4 % dos casais com história de PER, um dos parceiros é portador de uma translocação recíproca balanceada ou de uma translocação robertsoniana. Apesar da maioria dos indivíduos portadores de translocações equilibradas, serem fenotipicamente normais, poderão dar origem a gâmetas não equilibrados, o que resulta em AR, ou em nascimentos de bebés com mal formações e ou deficiência mental. Este risco é influenciado tanto pelo tamanho como pelo conteúdo genético implicado no rearranjo dos cromossomas (Stephenson et al, 2006).

3.1.2. Abordagem causas genéticas

A análise citogenética deve ser realizada sobre os produtos de concepção a partir da terceira perda consecutiva.

A análise do cariótipo através do sangue periférico de ambos os parceiros deve ser realizada em casais com PER cuja análise citogenética dos produtos de concepção revele uma anomalia cromossômica estrutural desequilibrada.

O achado de um cariótipo parental anormal implica referência para uma consulta de aconselhamento genético.

Numa gestação futura deverá ser considerada a realização de estudo citogenético embriofetal após ponderação de riscos numa consulta de diagnóstico pré-natal (SPOMMF).

Um estudo demonstrou que, os casais portadores de translocações equilibradas têm um baixo risco (0,8%) de gestações com um cariótipo desequilibrado capazes de sobreviver no segundo trimestre, e que, a sua probabilidade de ter uma criança saudável é de 83% (Franssen MT et al, 2006).

Nos casos de AR o papel do diagnóstico genético pré-implantatório (DPI) com fertilização in vitro tem sido revisto, e, verificou-se que não apresenta uma relação custo-benefício favorável, pois com o diagnóstico pré implantatório a taxa de perda embriofetal pode ser diminuída, mas apenas 33% das mulheres engravidam após cada ciclo de DPI / FIV (Christiansen et al, 2005).

3.2. Causas estruturais/ anomalias anatómicas

A frequência de anomalias uterinas congénitas na população geral é desconhecida, mas em mulheres com PER está associada a 1,8 % - 37,6% dos casos (Salim et al, 2003). Essa variabilidade reflete as diferenças nos critérios e técnicas utilizados para o diagnóstico, e também o facto dos estudos disponíveis incluírem mulheres com dois, três ou mais abortos espontâneos no primeiro e segundo trimestre da gravidez. As malformações uterinas parecem estar mais associadas a mulheres com aborto espontâneo no segundo trimestre em comparação com as mulheres que o sofrem no primeiro trimestre. As mulheres com úteros arqueados tendem a abortar mais no segundo trimestre, enquanto as mulheres com úteros septados são mais propensas a sofrer um aborto no primeiro trimestre. O septo uterino é a anomalia mülleriana mais frequentemente associada ao AR (Woelfer B. et al, 2001).

Da mesma forma a presença de fibromiomas (submucosos, grandes e múltiplos), e de sinéquias intra-uterinas, poderá afectar a implantação, e estar implicada no aumento de risco de AR.

Os fibromiomas uterinos estão presentes até 30% das mulheres, mas o seu efeito sobre a gravidez é ainda controverso (Hart R et al, 2001). Tradicionalmente os fibromiomas estão associados ao impedimento mecânico na implantação embrionária. Estudos posteriores demonstraram que a expressão do gene que controla a diferenciação e a implantação embrionária (gene HOX10), está diminuído nos úteros com fibromiomas em relação aos úteros normais (Rackow BW et al, 2006).

A incompetência cervico-ístimica (congénita ou adquirida) é uma causa reconhecida de aborto no segundo trimestre, mas a sua verdadeira incidência é desconhecida. O seu diagnóstico é estabelecido perante um historial de perdas gestacionais inexplicáveis no 2º trimestre associadas a dilatação cervical indolor.

3.2.1. Abordagem causas estruturais/ anatómicas

Todas as mulheres com AR devem realizar um estudo da cavidade uterina. Os métodos actualmente disponíveis são: ecografia pélvica com sonda transvaginal 2D ou 3D e/ou histerossalpingografia, complementadas se necessário com endoscopia (histeroscopia e laparoscopia). A ressonância magnética praticamente não é indicada pois, na grande maioria dos casos não apresenta uma boa relação custo-benefício. Uma revisão de diversos estudos que compararam a precisão do diagnóstico das diversas modalidades de imagem, concluiu que a ecografia bidimensional e / ou a histerossalpingografia podem ser usadas como um teste de triagem inicial. A associação da histeroscopia com a laparoscopia e a ecografia pélvica tridimensional devem ser usadas para a confirmação do diagnóstico. O valor diagnóstico da ressonância magnética permanece indeterminado. (Saravolos et al, 2008).

A cirurgia histeroscópica para correcção de patologia intracavitária deve ser considerada. A ciclorrafia cervical (ceclagem), embora não seja consensual, é defendida por grande parte dos autores nas situações devidamente documentadas de incompetência cérvico-ístmica. Em relação às malformações uterinas não há evidência suficiente sobre o benefício da ressecção do septo uterino em mulheres com útero septado e AR (Larsen et al, 2013). A vantagem da cirurgia uterina aberta não foi avaliada em estudos prospectivos mas está associada à infertilidade pós-operatória e acarreta um risco significativo de ruptura da cicatriz uterina durante uma futura gravidez. Essas complicações são menos prováveis de ocorrer após ressecção septal transcervical histeroscópica (Homer HA et al, 2000).

A cerclagem cervical está associada a potenciais riscos relacionados à cirurgia e ao risco de estimular as contrações uterinas, devendo ser apenas considerada em alguns casos. Em mulheres com gestação única e com história de abortamento no segundo trimestre atribuível a factores cervicais, poderá ser feita uma cerclagem se o comprimento cervical às 24 semanas de gestação for $\leq 25\text{mm}$ (Berghella et al, 2005).

Não há evidências conclusivas de que a cerclagem profilática reduza o risco de perda da gravidez e parto prematuro em mulheres com alterações cervicais.

O benefício foi mais acentuado nas mulheres com três ou mais abortamentos espontâneos no segundo trimestre ou nascimentos prematuros. No entanto, não houve diferença significativa na melhoria da sobrevivência perinatal (Drakeley et al, 2004)

3.3. Causas endócrinas

3.3.1. Diabetes e disfunção tiroideia

Têm sido associados ao AR distúrbios endócrinos maternos, tais como a diabetes mellitus e disfunções tiroideias.

As mulheres diabéticas com níveis elevados de hemoglobina A1C no primeiro trimestre têm um elevado risco de perda e malformação fetal.

No entanto, a diabetes mellitus bem controlada não é considerada um factor de risco para AR. O mesmo se aplica para os distúrbios da função tiroideia. A prevalência de diabetes mellitus e ou disfunção da tiróide controladas, nas mulheres com história de AR é semelhante à reportada na população em geral (Li T C. et al, 2000).

Alguns estudos indicam haver uma associação entre disfunção tiroideia e auto-anticorpos anti-tiroideus com AR. Isto também se aplica à mulher eutiroideia que apresenta auto-anticorpos e, à mulher que mesmo não apresentando anticorpos apresenta uma TSH elevada. Na gravidez e particularmente no 1º trimestre, a hCG apresenta uma reacção cruzada com o receptor da TSH levando a uma diminuição da TSH (feedback positivo erróneo). Por esta razão sugeriu-se que o limite superior do valor de referência para a TSH na mulher grávida deva ser inferior ao da não grávida - 2,5 mIU/L. Adicionalmente, níveis de TSH $>2,5\text{mIU/L}$ no 1º trimestre parecem estar associados a um risco de aborto duplicado (Twig et al, 2012).

Estas afirmações são controversas, uma vez que existem vários estudos que defendem que a presença de anticorpos anti-tiroideus e níveis de TSH aumentados na mulher eutiroideia não estão associados a AR. (Rushworth F. et al, 2000; Junhao Yan et al, 2012; Lia A. et al, 2013).

3.3.2. Alterações da prolactina

A prolactina participa tanto na ovulação como na maturação endometrial. A hiperprolactinemia é relatada como causa de AR. O tratamento destas mulheres com bromocriptina, que suprime a secreção da prolactina pela hipófise, reduz a taxa de AR (Hirahara et al, 1998). Por outro lado, a falta de expressão de prolactina por parte do endométrio durante a fase lútea do ciclo menstrual, também tem sido associada ao AR (Raj Rai et al, 2006).

3.3.3. Síndrome do ovário poliquístico (SOP)

O SOP tem sido associado a um risco aumentado de aborto espontâneo, mas o mecanismo exacto ainda não está esclarecido. Alterações na morfologia do ovário poliquístico, níveis elevados de LH e testosterona séricas, apesar de serem indicadores de SOP não podem prever um risco aumentado de perda da gravidez em mulheres com história de AR (Rai R et al, 2006).

O aumento do risco de PER em mulheres com SOP, foi mais recentemente atribuído à insulino resistência, à hiperinsulinémia e à hiperandrogenémia. A prevalência de insulino resistência está aumentada nas mulheres com AR. O mecanismo pode estar relacionado com o comprometimento da resposta fibrinolítica, que está implicada na remodelação de tecidos que acompanha a implantação embrionária (Carrington et al, 2005). Um elevado índice de androgéneos livres no soro parece ser um factor prognóstico para uma subsequente perda da gravidez em mulheres com AR. (Cocksedge et al, 2008).

Não há evidência suficiente para avaliar o efeito da suplementação com metformina durante a gravidez para evitar um aborto espontâneo em mulheres com abortos recorrentes e com historial de SOP (Palomba et al, 2009).

3.3.4. Obesidade

A obesidade está associada a um aumento estatisticamente significativo do risco de perda espontânea da gravidez no primeiro trimestre (Lashen et al., 2004).

A obesidade certamente tem um impacto negativo sobre a saúde das mulheres, e vários estudos têm demonstrado que a associação entre SOP e AR pode ser secundária à associação entre a obesidade e AR (Metwally M. et al, 2009).

3.3.5. Alterações na fase lútea e deficiência de progesterona

Um corpo lúteo funcional é essencial para o sucesso da implantação e manutenção da gravidez na sua fase inicial, principalmente por meio da produção de progesterona.

A progesterona, durante a gravidez, apresenta uma acção imunomoduladora na indução de um padrão de resposta imunológica baseada em citocinas anti-inflamatórias Th-2 em vez de Th1 pró-inflamatórias (Raghupathy et al, 2009).

Um defeito da fase lútea (defeito na função do corpo lúteo), com a produção de progesterona insuficiente, resulta no desenvolvimento de um endométrio com características inadequadas para a implantação embrionária, o que consequentemente também pode ser causa de AR, no entanto, esta associação é controversa, principalmente por causa de inconsistências no seu diagnóstico e gestão.

Em relação à hormona anti-mülleriana não se encontram na literatura científica evidências a respeito da sua associação com a AR (Niekerk et al, 2013).

Não há evidência suficiente para avaliar o efeito da suplementação com progesterona durante a gravidez para evitar o AR. Uma metanálise que pretendia avaliar o efeito da suplementação com progesterona durante a gravidez mostrou que esta não reduziu a taxa de abortamento (Haas et al, 2008). Encontra-se a decorrer um grande estudo multicêntrico, cujos resultados serão divulgados em Outubro de 2014 (*PROMESSA*, <http://www.medscinet.net/promise>) que pretende avaliar o benefício da suplementação com progesterona, durante o primeiro trimestre de gravidez, em mulheres com AR.

3.4. Causas Infecciosas

Qualquer infecção que curse com bacteriémia ou virémia grave pode causar perda embriofetal. O papel da infecção no AR não é claro, pois, para que um agente infeccioso leve ao AR deve ser capaz de persistir no tracto genital e também ser de difícil detecção e tratamento. A toxoplasmose, a rubéola, o citomegalovírus, o herpes vírus, e a listéria não cumprem estes critérios. A vaginose bacteriana é a única entidade infecciosa potencialmente associada ao AR do 2º trimestre e parto pré termo. (Regan L. et al, 2001). No entanto esta afirmação é controversa assim como o seu tratamento sistemático com clindamicina na grávida com vaginose bacteriana detectada no 1º trimestre da gravidez (Raj Rai et al, 2006) ou metronidazol (Shennan A et al, 2006). As gravidezes complicadas por sífilis não tratada pode conduzir a AR se permanecer não tratada na gravidez

subsequente. A tuberculose genital pode causar falhas de implantação ou rejeição embrionária precoce, levando a gravidez ectópica e AR (Niekerk et al, 2013).

3.5. Causas imunológicas

De acordo com a perspectiva tradicional da imunologia da gravidez, a sobrevivência do feto depende da supressão da resposta imunitária materna. No entanto, não ocorre uma supressão generalizada do sistema imune materno, apesar de ocorrerem alterações das funções dos linfócitos. A compreensão contemporânea da imunologia reprodutiva postula uma interacção cooperativa entre o sistema imune materno e os antígenos fetais (Raj Rai et al, 2006).

A hipótese de que alguns casos de AR ser devido a uma falha de reconhecimento materno aloimune da gravidez nunca foi comprovada. Também não há provas para apoiar a hipótese de que a incompatibilidade HLA entre casais possa levar a AR, pelo que não se deve fazer este tipo de investigação aos casais (Niekerk et al, 2013).

3.5.1. Células *natural killer* (NK)

Um dos mais recentes pontos de interesse tem sido o estudo da relação entre as células NK (*natural killer cells*), e o AR. As células NK são linfócitos, e fazem parte da imunidade inata. Estas células são encontradas no sangue periférico e na mucosa uterina. As células NK periféricas são fenotipicamente e funcionalmente diferente das células NK uterinas (NKu) (Koopman LA et al, 2003). Não há evidências claras de que alterações, quantitativas e ou qualitativas das células NK do sangue periférico estejam relacionadas com a AR. Além disso, a percentagem de células NK no sangue periférico de um indivíduo saudável varia de 5 a 29% e é afectada pelo género, stress, etnia e idade. Nesse contexto a análise das células NK do sangue periférico, como marcador de risco de PER não é adequada e não deve ser feita como análise de rotina dos casais com AR (Rai et al.,2005; Tang et al. 2011)

Tem sido defendido que as células NKu podem desempenhar um papel na invasão trofoblástica e angiogénese para além de serem uma componente importante da resposta imunitária materna local face aos agentes patogénicos (Bouteiller et al 2008). Alguns estudos sugerem que alterações qualitativas e quantitativas das células NKu também podem estar envolvidas na AR. No entanto uma metanálise demonstrou que o valor prognóstico do número e da actividade das células NKu permanece incerto pelo que não deve ser preditivo do resultado da gravidez, inclusive nos casos de AR (Tang et al. 2011).

Existem estudos sobre a utilização de agentes anti-TNF em mulheres com AR, (Winger and Reed, 2008; Winger et al., 2009; no entanto é controversa a sua utilização, e não existem resultados conclusivos que a recomendem.

3.5.2. Células T

As células T desempenham um papel central na imunorregulação. As células T auxiliares (Th) pode ser classificados em células Th1, que produzem interleucina (IL) - 2 e o interferão (IFN) γ e estão envolvidas na imunidade celular , e as células Th2 , que produzem IL-4 , IL-5 e IL-13 e estão envolvidas na imunidade humoral.

Na década de 1980, a tolerância materna para aloantígenos fetais foi explicada pela predominância da imunidade do tipo Th2 durante a gravidez, o que protegia o feto do ataque das células Th1 maternas. Com efeito, associou-se o efeito predominante da imunidade Th1 ao AR. Posteriormente foi descrita a predominância da imunidade Th2 em casos de AR. O paradigma Th1/Th2 é insuficiente para explicar o mecanismo pelo qual o feto não é rejeitado por células do sistema imunológico materno. Agora, o paradigma Th1/Th2 foi expandido às células T reguladoras (Treg) e às células Th17. As células Th17, produzem a citocina pró-inflamatória IL - 17 ,e desempenham um papel importante na indução da inflamação. Tem sido proposto o seu envolvimento em doenças auto-imunes e na rejeição aguda de transplantes. Em contraste, as células T reguladoras (Treg) desempenham um papel central para a imunorregulação e indução de tolerância imunológica. As células T para além de poderem estar envolvidas no AR, também poderão estar na génese da preeclâmpsia e do parto pré termo (Saito S et al. 2010).

3.5.3. Fator estimulante de colónias de granulócitos (G-CSF)

O G-CSF é uma citoquina com um papel regulador importante na implantação do embrião e seu posterior desenvolvimento. O défice de G-CSF na gravidez tem um impacto negativo sobre o desenvolvimento fetal (Robertson SA et al, 2007).

Estudos recentes têm mostrado que os ovócitos de melhor qualidade provêm de folículos com maiores níveis de G-CSF. A investigação tem sido feita no sentido de testar a eficácia da administração de G-CSF para a prevenção da perda do embrião em mulheres com AR. A maioria dos dados mostra que o G-CSF pode ser eficaz no tratamento do AR inexplicável. Contudo são necessários mais estudos que atestem a validade deste tipo de tratamento (Santjohanser et al, 2013).

3.6. Síndrome de anticorpos antifosfolípidos (SAAF)

O SAAF é a causa tratável mais importante da AR. Este síndrome caracteriza-se pela presença, por pelo menos 12 semanas, de anticorpos antifosfolípidos (aAF): o anticorpo anticoagulante lúpico e os anticorpos anticardiolipina e anti- β 2 glicoproteína 1, associados a trombose vascular e/ou a resultados adversos na gravidez (Álvaro et al, 2012).

Resultados adversos na gravidez incluem:

- 3 ou mais abortos espontâneos consecutivos antes das 10 semanas de gestação e /ou
- 1 ou mais perdas fetais morfologicamente normais após a 10ª semana de gestação e/ou
- 1 ou mais nascimentos prematuros antes da 34ª semana de gestação, devido a insuficiência placentária ou pré-eclâmpsia /eclâmpsia severa.

Os mecanismos pelos quais anticorpos antifosfolípidos causam morbidade na gravidez, incluem a inibição da função e diferenciação do trofoblasto, e a activação de vias do complemento na interface materno-fetal, resultando numa resposta inflamatória local e, na gravidez mais tardia, em trombose da vasculatura uteroplacentar (Álvaro et al, 2012).

Os estudos in vitro demonstraram que o efeito dos anticorpos antifosfolípidos no trofoblasto e a activação do complemento pode ser revertida pela heparina (Quenby S et al, 2004).

Os anticorpos antifosfolípidos estão presentes em cerca de 15% das mulheres com AR. Em comparação, a prevalência de anticorpos antifosfolípidos em mulheres com história obstétrica de baixo risco é inferior a 2%. Em mulheres com abortos recorrentes associados com anticorpos antifosfolípidos, a percentagem de nascimentos vivos em gravidezes sem intervenção farmacológica é de apenas 10% (Rai RS et al, 1995).

A SAAF pode ser primária (quando ocorre isoladamente) ou secundária (quando ocorre associada a outras patologias auto-imunes, nomeadamente o Lupus Eritematoso Sistémico (LES). Cerca de 1/3 das mulheres com LES apresenta anticorpos antifosfolípidos, pelo que é fácil perceber a associação entre o LES e o AR, no entanto esta associação parece persistir independentemente da existência destes anticorpos (Álvaro et al, 2012).

3.6.1. Abordagem/ tratamento do SAAF

Deve ser feita pesquisa de anticorpos antifosfolípidos em todas as mulheres com história de AR no primeiro trimestre, ou de uma ou mais perdas fetais no segundo trimestre.

Para diagnosticar o síndrome antifosfolípídico é obrigatório que a mulher tenha dois testes positivos, com pelo menos 12 semanas de intervalo para detecção do anticoagulante lúpico e/ ou anticorpo anticardiolipina (aCL) (IgG e/ou IgM) e/ou anticorpo anti β -2-glicoproteína (β -2-GP1) (IgG e /ou IgM)

Têm sido utilizados vários medicamentos para melhorar o resultado da gravidez nas mulheres com SAAF, tais como o ácido acetilsalicílico, corticoides, imunoglobulina intravenosa e heparina. No entanto, uma meta-análise mostra que apenas a combinação de heparina e ácido acetilsalicílico pode melhorar significativamente a taxa de nascimentos (Empson M et al, 2002). Este tratamento melhora o resultado da gravidez em 54%, permitindo atingir uma taxa de nascimentos superior a 70% (Kutteh, 1996). Embora um outro estudo mostrou não haver benefícios na adição de heparina à aspirina (Farquharson et al, 2002).

Não há resultados fetais adversos relatados com a utilização de doses baixas de ácido acetilsalicílico durante a gravidez (Duley et al, 2007). A heparina não atravessa a placenta, não causando assim hemorragia fetal ou teratogenicidade, no entanto, pode estar associada a complicações maternas, incluindo sangramento, reacções de hipersensibilidade, trombocitopenia, e, quando usada a longo prazo, osteopenia. A heparina de baixo peso molecular é tão segura quanto a heparina não fracionada, apresentando potenciais vantagens durante gravidez, uma vez que diminui a incidência de trombocitopenia induzida por heparina, pode ser administrada uma vez por dia e, está associada a um menor risco de osteoporose (Greer et al, 2005).

De acordo com as guidelines da SPOMMF, a aspirina em baixa dosagem associada a heparina de baixo peso molecular é a única terapêutica preconizada para o tratamento desta síndrome na gravidez.

O momento exacto em que a terapia com heparina deve ser iniciada está a ser avaliado, uma vez que não está claro se o seu principal efeito terapêutico reside na inibição de fenómenos trombóticos durante o primeiro trimestre da gravidez ou, se reside na melhoria da implantação, pelo que neste último caso a terapia deve ser iniciada antes ou logo após a ovulação. Em relação ao sucesso da implantação, possivelmente o efeito da heparina é superior ao das heparinas de baixo peso molecular, no entanto são necessários mais estudos para corroborar ou refutar esta sugestão (Check et al, 2012).

3.7. Trombofilias

A gravidez é um estado de hipercoagulabilidade. A alteração fisiológica na hemostase, associada à gravidez, têm como função contrariar a instabilidade inerente à placentação hemocorial, que é característica dos seres humanos (Lockwood C et al, 2011).

Em mulheres com distúrbios na coagulação, para além da referida alteração fisiológica da hemostase, há uma maior incidência de casos de aborto recorrente, morte fetal, pré-eclampsia, restrição do crescimento intra-uterino e descolamento prematuro da placenta.

Os distúrbios na coagulação podem ser hereditários ou adquiridos, levando a fenómenos trombóticos ao nível da vascularização útero-placentária (artérias espiraladas e espaço intervilloso), com consequente alteração da perfusão placentária. Os distúrbios da coagulação, para além do SAAF já descrito anteriormente, podem ser devidos a:

- mutação do fator V Leiden (G1691A) (FVL)
- deficiência de proteína C /resistência adquirida à proteína C activada
- mutação do gene da metileno tetrahidrofolato reductase C677T
- deficiência de proteína S
- deficiência de antitrombina
- mutação do gene G20210A da protrombina

A mutação do Factor V de Leiden resulta de uma substituição de uma adenina por um guanina na posição 1691 do gene codificante deste factor. Como consequência, o factor V torna-se resistente à acção da proteína C activada.

A resistência à proteína C activada (RPCA) também pode ser adquirida, e está associada à presença de anticoagulante lúpico e de altas concentrações do factor VIII da coagulação. Um grande estudo observacional realizado numa clínica especializada em AR concluiu que a RPCA adquirida está mais associada ao AR do que a RPCA relacionada com o Factor V de Leiden (Rai R et al, 2001).

A RPCA adquirida é um factor de risco reconhecido de tromboembolismo venoso, assim como de AR, no entanto, a sua causa não é totalmente conhecida. A hipótese da existência de polimorfismos alternativos no gene do fator V pode explicar a existência da RPCA adquirida (Dawood F et al, 2007).

A mutação na posição 677 do gene codificante da metilenotetrahidrofolato reductase (MTHFR) leva a uma redução da conversão da homocisteína em metionina. Por sua vez a hiperhomocisteinémia prejudica a função das células endoteliais e promove a

trombose (Seligsohn et al, 2001). Os níveis de homocisteína podem variar, dependendo do estado do indivíduo, da ingestão de ácido fólico, e de vitamina B12 e, portanto, é difícil obter resultados representativos. Uma metanálise concluiu que a hiperhomocisteinémia era um fator de risco para AR (Nelen WL et al, 2000).

O consumo de ácido fólico em altas doses (5 mg/dia) e vitamina B12 (0,5 mg/dia) tem sido associado à redução dos os níveis de homocisteína (Kumar KS et al, 2003).

As deficiências de antitrombina, de proteína C e proteína S são heterogêneas quanto à sua etiologia genética e não são tão prevalentes quanto as mutações do Factor V de Leiden e da protrombina entre mulheres que sofreram AR. A maioria dos casos de trombofilias hereditárias, 50 a 60% estão associadas a mutação do factor V de Leiden e do gene G20210A da protrombina (Niekirk et al, 2013).

A deficiência de antitrombina foi a primeira trombofilia hereditária a ser identificada, e é a mais trombogénica. A sua prevalência é de cerca de 1:600-1000. (Tait RC et al, 1994). Apesar de ter sido associada ao aumento do risco de AR, estudos subsequentes põem em causa esta associação (Rey E et al, 2009). A relação entre a deficiência de proteína S e AR tem sido pouco estudada de forma isolada. Num estudo caso-controlo a incidência de deficiência de proteína S foi duas vezes superior no grupo de mulheres que sofreram AR em comparação com o grupo de controlo. No entanto este estudo não foi considerado estatisticamente significativo (Kelly McNamee et al, 2012).

A mutação da protrombina afecta 2-3 % dos europeus, e está presente em 17% das mulheres grávidas que sofreram um tromboembolismo venoso (Gerhardt A et al, 2000). Dois estudos de caso-controlo não encontraram correlação entre a mutação da protrombina e o AR. (Altintas A et al, 2007; Serrano F, et al, 2011) .Esta conclusão foi suportada por um estudo de coorte prospectivo envolvendo mais de 4000 mulheres (Silver RM et al, 2010).

3.7.1 Abordagem e tratamento das trombofilias

De acordo com estudos recentes não parece haver associação entre as trombofilias hereditárias e as perdas gestacionais no 1º trimestre (Check et al, 2012). A pesquisa de marcadores de distúrbios da coagulação, fica assim reservada para a investigação clínica de casos seleccionados de perdas gestacionais no 2º trimestre da gravidez.

As mulheres com perda fetal no segundo trimestre devem fazer o rastreio para as trombofilias hereditárias, nomeadamente, mutação do gene do factor V de Leiden, mutação do gene da protrombina, e défice de proteína S. (Silver et al, 2010). Uma

metanálise reporta uma forte associação entre a perda fetal no segundo trimestre e as referidas trombofilias hereditárias (Rey E et al, 2009).

Não há evidência suficiente para avaliar o efeito da heparina durante a gravidez para evitar AR no primeiro trimestre, em mulheres com trombofilia hereditária. No entanto em relação à perda fetal no segundo trimestre, a terapia com heparina pode aumentar a taxa de nados vivos. Um estudo prospectivo randomizado (Gris JC et al, 2004) demonstrou a eficácia da heparina de baixo peso molecular (enoxaparina) no tratamento de mulheres com história de AR, após as 10 semanas de gestação, portadoras de mutação do fator V Leiden ou de mutação do gene da protrombina ou com deficiência de proteína S. A taxa de nados vivos nas mulheres tratadas com enoxaparina foi de 86% em comparação com 29% em mulheres que tomaram aspirina em baixas doses).

4. Alterações vasculares associadas ao AR

O estudo hemodinâmico do útero e dos ovários durante o ciclo menstrual tem sido facilitado pela introdução do eco Doppler. Os indicadores uterinos predictores da implantação ecograficamente mensuráveis, são a espessura, o volume e o padrão do endométrio, assim como o fluxo dos vasos uterinos e sub-endometriais (Schild RL et al, 1999).

A ecografia endovaginal com Doppler do fluxo das artérias uterinas é um método não invasivo que permite avaliar a perfusão uterina. Uma perfusão uterina normal é de grande importância para a obtenção e manutenção de uma gravidez. Durante um ciclo menstrual normal, a impedância ao fluxo sanguíneo da artéria uterina diminui progressivamente durante a fase lútea, atingindo os valores mais baixos durante o período que coincide temporalmente com a janela de implantação (Yokota A et al, 2000). Algumas publicações mostram que as elevadas resistências ao fluxo sanguíneo estão associadas a uma menor taxa de concepção, e que as mulheres com menores valores de índice de pulsatilidade (IP) têm maior probabilidade de engravidar (Lazzarin N et al, 2007; Ferreira AM et al, 2007).

Com o surgimento do power Doppler tridimensional (3D-PDS) tornou-se possível a avaliação quantitativa da densidade e da perfusão dos vasos ao nível do sub-endométrio, o que pode dar uma ideia sobre a interação entre o fluxo sanguíneo e complicações na gravidez (Raine-Fenning et al, 2004).

Existem estudos que demonstraram que a resistência ao fluxo sanguíneo na artéria uterina é elevada no meio da fase lútea na mulher não grávida com historial de AR. Este valor é ainda mais elevado quando na presença de anticorpos antinucleares (Habara T et al, 2002; Dendrinis S et al, 2006). A medição do IP da artéria uterina no

meio da fase lútea de um ciclo espontâneo pode identificar as alterações da perfusão uterina nas mulheres com AR. Este parâmetro pode representar um factor de risco independente para AR (Ferreira AM et al, 2007; Lazzarin N et al, 2007).

Apesar destes estudos, ainda não se estabeleceram quaisquer valores de *cut off* que poderão prever a ocorrência de aborto espontâneo. Os estudos são escassos e o tamanho das amostras muitas vezes é insuficiente para que se possam obter resultados estatisticamente significativos. São necessários novos estudos, idealmente multicêntricos para se possam tirar conclusões acerca da relação entre a perfusão uterina inadequada e o AR.

5. AR inexplicável

Uma proporção significativa dos casos de AR permanecem sem explicação apesar de detalhada investigação. Nestas mulheres a probabilidade de uma futura gravidez com sucesso é cerca de 75% (Brigham et al, 1999). No entanto, o prognóstico piora com o aumento da idade materna e o número de perdas gestacionais anteriores. A importância dos factores psicológicos para melhorar o resultado da gravidez não foi testada na forma de um estudo randomizado controlado. No entanto, os dados de outros estudos defendem que o apoio psicológico tem um efeito benéfico, apesar do seu mecanismo não ser conhecido.

O papel de factores ambientais tais como o álcool, tabaco também poderão estar associados ao AR, uma vez que influenciam negativamente a gravidez (Larsen et al, 2013). No entanto, os estudos realizados sobre o efeito dos factores ambientais baseiam-se essencialmente em casos de aborto esporádico, não havendo assim estudos consistentes que permitam atribuir causas ambientais à AR.

Tem sido prescrito ácido acetilsalisílico (AAS) ou combinação de AAS com heparina em mulheres com AR inexplicável, com o objectivo de se obter uma gravidez bem sucedida, no entanto, existem estudos que contrariam esta prática (Kaandorp SP e tal, 2010; Clark P et al, 2010). Estes dados sugerem que o tratamento empírico de mulheres com AR inexplicável é desnecessário e deve ser combatido.

Provavelmente poderemos dividir o AR idiopático em dois grupos: tipo 1 e tipo 2. No tipo 1 o AR ocorre predominantemente devido ao acaso na mulher sem patologia específica subjacente, tem relativamente bom prognóstico quando comparado com outras mulheres da mesma idade, não sendo necessária intervenção médica. No tipo 2 o AR ocorre devido a uma patologia subjacente que actualmente ainda não se consegue identificar nos exames de rotina estabelecidos para avaliação da grávida ou da mulher

que pretende engravidar. Têm pior prognóstico quando comparadas com mulheres da mesma idade.

Apesar da maioria pertencer ao tipo 1, algumas variáveis clínicas (como a idade, número prévio de abortos, cariótipo) são úteis para os distinguirmos. Nas mulheres mais jovens é menos provável que ocorra AR devido ao acaso assim como nas mulheres com maior número de abortos prévios. Se o cariótipo dos produtos de concepção dos abortos prévios for normal também é menos provável que ocorra devido ao acaso (Saravolos et al, 2012)

6. Conclusão

Nos países desenvolvidos, a idade materna da primeira gravidez tem aumentado nos últimos anos e as taxas de natalidade estão em declínio.

A idade da mãe no momento da concepção e a sua história reprodutiva anterior são factores de risco independentes para AR. A probabilidade de uma gravidez bem-sucedida numa mulher de 40 anos ou mais é reduzida. Os estudos mais recentes também indicam haver contribuição de factores paternos, estando estes também relacionados com a idade.

Nos casos de AR deve ser feita uma investigação detalhada do casal para que se possa estabelecer uma causa e assim proceder ao seu tratamento dirigido.

A demonstração que algumas mulheres com história de AR apresentam um estado pró-trombótico, fora da gravidez, enfatizou o papel das vias hemostáticas no início do desenvolvimento da gravidez e o valor da terapia anticoagulante no tratamento do AR. No entanto são necessários mais estudos para definir bem os critérios e quais as mulheres que beneficiam com esta terapia, para além daquelas com diagnóstico de SAAF. Com isto pretende-se evitar o uso empírico e indiscriminado de anticoagulantes.

Os estudos na área da imunologia da gravidez parecem promissores e podem desvendar causas de AR até aqui catalogadas como inexplicáveis/ idiopáticas. Tais como a presença de anticorpos antitiroideus, o papel desempenhado pelas células T e Nk e pelo G-CSF. A terapia com agentes anti-TNF e G-CSF tem demonstrado resultados positivos, no entanto carece de estudos clínicos mais abrangentes para que possam ser recomendados no tratamento do AR. O mesmo se aplica às terapias com progesterona e metformina, assim como aos estudos das alterações vasculares associados ao AR.

7. Bibliografia

Altintas A, Pasa S, Akdeniz N et al. (2007); Factor V Leiden and G20210A prothrombin mutations in patients with recurrent pregnancy loss: data from the southeast of Turkey. *Ann Hematol*; 86: 727–731.

Alvaro Danza,Guillermo Ruiz-Irastorza, Head, Munther Khamashta. (2012); Antiphospholipid syndrome in obstetrics, *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*; 26: 65–76

Berghella V,Odibo AO,To MS,Rust OA,Althuisius SM. (2005); Cerclage for short cervix on ultrasonography:meta-analysis of trials using individual patient-level data.*Obstet Gynecol*;106:181–9.

Bouteiller P, Piccinni MP. (2008); Human NK cells in pregnant uterus:why there? *Am J Reprod Immunol*;59:401–6.

Brigham SA,Conlon C, Farquharson RG. (1999); A longitudinal study of pregnancy outcome following idiopathic recurrent miscarriage.*Hum Reprod*;14:2868–71.

Carrington B, Rai R, Regan L. (2005); Polycystic ovaries, insulin resistance, hypofibrinolysis and recurrent miscarriage. *J Soc Gynecol Investig*; 12: 20 (abstr).

Check JH. The use of heparin for preventing miscarriage. (2012); *Am J Reprod Immunol*; 67: 326–333

Christiansen O, Nybo Andersen A, Bosch E, Daya S, Delves PJ, Thomas V. (2005); Evidence-based investigations and treatments of recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril*;83(4):821-839.

Clark P,Walker ID, Langhorne P,Crichton L,Thomson A, Greaves M, et al. (2010); Scottish Pregnancy Intervention Study (SPIN) collaborators. SPIN (Scottish Pregnancy Intervention) study: a multicenter, randomized controlled trial of low-molecular-weight heparin and low-dose aspirin in women with recurrent miscarriage.*Blood*;115:4162–7.

Cocksedge KA, Saravelos SH,Wang Q,Tuckerman E, Laird SM, LiTC. (2008); Does free androgen index predict subsequent pregnancy outcome in women with recurrent miscarriage? *Hum Reprod*;23:797–802.

Dawood F, Mountford R, Farquharson R et al. (2007) Genetic polymorphisms on the factor V gene in women with recurrent miscarriage and acquired APCR. *Hum Reprod*; 22: 2546–2553.

Dendrinios S, Creatsas G, Makrakis E, Hassiakos D, Baka S, Botsis D. (2006); Increased impedance in the uterine arteries of women with unexplained recurrent pregnancy loss. *Eur J Obstet Gynecol reprod Biol*; 127: 266–268.

Drakeley AJ,Roberts D,Alfirevic Z. (2003); Cervical cerclage for prevention of preterm delivery:meta-analysis of randomized trials. *Obstet Gynecol*; 102: 621–7

Duley L,Henderson-Smart DJ,Meher S,King JF. (2007); Antiplatelet agents for preventing pre-eclampsia and its complications. *Cochrane Database Syst Rev*;(2):CD004659.

Empson M, Lassere M, Craig JC, Scott JR. (2002); Recurrent pregnancy loss with antiphospholipid antibody: a systematic review of therapeutic trials. *Obstet Gynecol*; 99: 135–44.

Farquharson R, Quenby S, Greaves M. (2002); Antiphospholipid syndrome in pregnancy: a randomized controlled trial of treatment. *Obstet Gynecol*; 100: 408–13.

Ferreira AM, Pires CR, Moron AF, Araujo E, Trania E, Mattar R. (2007); Doppler assessment of uterine blood flow in recurrent pregnancy loss. *Inter J Gynecol Obstet*;98:115–9.

Franssen MT, Korevaar JC, van der Veen F, Leschot NJ, Bossuyt PM, Goddijn M. (2006); Reproductive outcome after chromosome analysis in couples with two or more miscarriages: index [corrected]-control study. *BMJ*;332:759–63. Erratum in: *BMJ* 2006; 332:1012.

Gerhardt A, Scharf RE, Beckmann MW et al. Prothrombin and factor V mutations in women with a history of thrombosis during pregnancy and the puerperium. (2000); *N Engl J Med*; 342: 374–380.

Greer IA, Nelson-Piercy C. (2005); Low-molecular-weight heparins for thromboprophylaxis and treatment of venous thromboembolism in pregnancy: a systematic review of safety and efficacy. *Blood*;106:401–7.

Gris JC, Mercier E, Quéré I, Lavigne-Lissalde G, Cochery-Nouvellon E, Hoffet M, et al. (2004); Low-molecular weight heparin versus low-dose aspirin in women with one fetal loss and constitutional thrombophilic disorder. *Blood*;103:3695–9.

Haas DM, Ramsey PS. (2008); Progestogen for preventing miscarriage. *Cochrane Database Syst Rev*; (2):CD003511

Habara T, Nakatsuka M, Konishi H, Asagiri K, Noguchi S, Kudo T. (2002); Elevated blood flow resistance in uterine arteries of women with unexplained recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod*; 17: 190–194.

Hart R, Khalaf Y, Yeong CT, Seed P, Taylor A, Braude P. (2001); A prospective controlled study of the effect of intramural uterine fibroids on the outcome of assisted conception. *Hum Reprod*; 16: 2411–17.

Hirahara F, Andoh N, Sawai K, Hirabuki T, Uemura T, Minaguchi H. (1998) Hyperprolactinemic recurrent miscarriage and results of randomized bromocriptine treatment trials. *Fertil Steril*; 70: 246–252.

Homer HA, Li TC, Cooke ID. (2000); The septate uterus: a review of management and reproductive outcome. *Fertil Steril*; 73:1–14.

Junhao Yan, Sreebala Sripada, Sotirios H. Saravelos, Zi-Jiang Chen, William Egner, Tin-Chiu Li. (2012); Thyroid peroxidase antibody in women with unexplained recurrent miscarriage: prevalence, prognostic value, and response to empirical thyroxine therapy; *Fertility and Sterility*; 98(2): 378–382

Kaandorp SP, Goddijn M, van der Post JA, Hutten BA, Verhoeve HR, Hamulyák K, et al. (2010); Aspirin plus heparin or aspirin alone in women with recurrent miscarriage. *N Engl J Med*; 362:1586–96.

Kelly McNamee, Feroza Dawood, Roy G. Farquharson. (2012); Thrombophilia and early pregnancy loss. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*; 26: 91–102

Koopman LA, Kopcow HD, Rybalov B, et al. (2003); Human decidual natural killer cells are a unique NK cell subset with immunomodulatory potential. *J Exp Med*; 198: 1201–12.

Kumar KS, Govindaiah V, Naushad SE et al. (2003); Plasma homocysteine levels correlated to interactions between folate status and methylene tetrahydrofolate reductase gene mutation in women with unexplained recurrent pregnancy loss. *J Obstet Gynaecol*; 23: 55–58.

Kutteh WH. (1996); Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low-dose aspirin is superior to low-dose aspirin alone. *Am J Obstet Gynecol*; 174:1584–89.

Larsen C, Ole Bjarne Christiansen¹, Astrid Marie Kolte, Nick Macklon. (2013); New insights into mechanisms behind miscarriage. *BMC Medicine*; 11:154

Lashen H, Fear K and Sturdee DW. (2004); Obesity is associated with increased risk of first trimester and recurrent miscarriage: matched case-control study. *Hum Reprod*; 19: 1644–1646.

Lazzarin N, Vaquero E, Exacoustos C, Romanini E, Amadio A, Arduini D. (2007); Midluteal phase doppler assessment of uterine artery blood flow in nonpregnant women having a history of recurrent spontaneous abortions: correlation to different etiologies. *Fert Steril*;87:1383–7.

Lia A. Bernardi, Ronald N. Cohen, Mary D. Stephenson. (2013); Impact of subclinical hypothyroidism in women with recurrent early pregnancy loss *Fertil Steril*; 100:1326–31

LiTC, Spuijbroek MD, Tuckerman E, Anstie B, Loxley M, Laird S. (2000); Endocrinological and endometrial factors in recurrent miscarriage. *BJOG*;107:1471–9

Lockwood C, Wendel G. (2011); Committee on Practice Bulletins – Obstetrics. Practice Bulletin No. 124: Inherited thrombophilias in pregnancy. *Obstet Gynecol*;118:730-740.

Lynne Robinson, Ioannis D. Gallos, Sarah J. Conner, Madhurima Rajkhowa, David Miller, Sheena Lewis, Jackson Kirkman-Brown, and Arri Coomarasamy. (2012); The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: a systematic review and meta-analysis *Human reproduction*; 27(10): 2908–2917

Metwally M, Saravelos S, Ledger W, Li T. (2010); Body mass index and risk of miscarriage in women with recurrent miscarriage. *Fertil Steril*; 94: 290-295.

Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. (2006); International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost*; 4: 295–306.

Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA et al. (2000); Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta-analysis. *Fertil Steril*; 74: 1196–1199.

Niekerk; I Siebert; T F Kruger. (2013); An evidence-based approach to recurrent pregnancy loss; *S Afr j OG*;19(3):61-65.

Nybo Anderson AM, Wohlfahrt J, Christens P, Olsen J, Melbye M. (2000); Maternal age and fetal loss: population based register linkage study. *BMJ* 320:1708–12

Palomba S, Falbo A, Orio F Jr, Zullo F. (2009); Effect of preconceptional metformin on abortion risk in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril*; 92: 1646–58.

Quenby S, Mountfield S, Cartwright JE, Whitley GS, Vince G. (2004); Effects of low-molecular-weight and unfractionated heparin on trophoblast function. *Obstet Gynecol*; 104: 354–61

Rackow BW, Taylor HS. (2006); Uterine leiomyomas affect endometrial HOXA10 expression. *J Soc gynecol Investig*; 13 (suppl 2): 654 (abstr).

Raghupathy R, Al-Mutawa E, Al-Azemi M, Makhseed M, Azizieh F, Szekeres-Bartho. (2009) Progesterone-induced blocking factor (PIBF) modulates cytokine production by lymphocytes from women with recurrent miscarriage or preterm delivery. *J Reprod Immunol*; 80: 91–9.

Rai R, Sacks G, Trew G. (2005); Natural killer cells and reproductive failure – theory, practice and prejudice. *Hum Reprod*; 20: 1123–6.

Rai R, Shelbak A, Cohen H et al. (2001); Factor V Leiden and acquired activated protein C resistance among 1000 women with recurrent miscarriage. *Hum Reprod*; 16: 961–965

Rai RS, Clifford K, Cohen H, Regan L. (1995); High prospective fetal loss rate in untreated pregnancies of women with recurrent miscarriage and antiphospholipid antibodies. *Hum Reprod*; 10: 3301–04.

Raine-Fenning NJ, Campbell BK, Kendall NR, Clewes JS, Johnson IR. (2004); Quantifying the changes in endometrial vascularity throughout the normal menstrual cycle with three-dimensional power doppler angiography. *Hum Reprod*; 19: 330–8.

Raj Rai, Lesley Regan (2006); Recurrent miscarriage. *Lancet*; 368: 601–11

Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. (2009); Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet*; 361: 901–8.

Robertson SA. (2007); GM-CSF regulation of embryo development and pregnancy. *Cytokine Growth factor Rev*; 18 (3-4): 287-298.

Rochebrochard de la E, Thonneau P. (2002); Paternal age and maternal age are risk factors for miscarriage; results of a multicentre European study. *Hum Reprod*; 17: 1649–56.

Rushworth FH, Backos M, Rai R, Chilcott IT, Baxter N, Regan L. (2000); Prospective pregnancy outcome in untreated recurrent miscarriers with thyroid autoantibodies. *Hum Reprod*; 15: 1637–9

Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M. (2010); Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol*; 63: 601–610

Salim R, Regan L, Woelfer B, Backos M, Jurkovic D. (2003); A comparative study of the morphology of congenital uterine anomalies in women with and without a history of recurrent first trimester miscarriage. *Hum Reprod*; 18: 162–66.

Santjohanser, C.a, Knieper, C.b, Franz, C.b, Hirv, K.c, Meri, O.a, Schleyer, M.a, Würfel, W.a, toth, B.b (2013); Granulocyte-colony stimulating factor as treatment option in patients with recurrent miscarriage *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*; 61(2): 159-164

Saravelos S. H, Tin-Chiu L, Li TC. (2012); Unexplained recurrent miscarriage: How can we explain it? *Human Reproduction*; 27(7): 1882–1886

Saravelos SH, Cocksedge KA, LiTC. (2008); Prevalence and diagnosis of congenital uterine anomalies in women with reproductive failure: a critical appraisal. *Hum Reprod Update*; 14: 415–29

Schild RL, Indefrei D, Eschweiler S, et al. (1999); Three dimensional endometrial volume circulation and pregnancy rate in an in vitro fertilization programme. *Hum Reprod*; 14: 1255–8.

Seligsohn U & Lubetsky A. (2001); Genetic susceptibility to venous thrombosis. *N Engl J Med*; 344: 1222–1231.

Serrano F, Lima ML, Lopes C et al. (2011); Factor V Leiden and prothrombin G20210A in Portuguese women with recurrent miscarriage: is it worthwhile to investigate? *Arch Gynecol Obstet*; 284(5) :1127-32.

Serrano F, Lima ML. (2006) Recurrent miscarriage: psychological and relational consequences for couples. *Psychol Psychother*; 79: 585-594

Shennan A, Crawshaw S, Briley A, Hawken J, Seed P, Jones G, Poston L. (2006); A randomised controlled trial of metronidazole for the prevention of preterm birth in women positive for cervicovaginal fetal fibronectin: the PREMETS Study. *BJOG*; 113: 65-74.

Silver RM, Zhao Y, Spong CY, Sibai B, Wendel G, Wenstrom K, Samuels P, Caritis SN, Sorokin y, Miodovnik M, O'Sullivan MJ, Conway D, Wapner RJ. (2010); Prothrombin gene G20210A mutation and obstetric complications. *Obstet Gynecol*; 115: 14-20.

Simon L, Brunborg G, Stevenson M, Lutton D, McManus J, Lewis SE. (2010); Clinical significance of sperm DNA damage in assisted reproduction outcome. *Hum Reprod*; 25:1594–1608.

SPOMMF - http://www.spom.pt/Aborto_Recorrente.pdf

Stephenson MD, Sierra S. (2006); Reproductive outcomes in recurrent pregnancy loss associated with a parental carrier of a structural chromosome rearrangement. *Hum Reprod*; 21: 1076–82.

Tait RC, Walker ID, Perry DJ et al. (1994); Prevalence of antithrombin deficiency in the healthy population. *Br J Haematol*; 87: 106–112

Tang Z., Alfirevic, and S. Quenby. (2011); Natural killer cells and pregnancy outcomes in women with recurrent miscarriage and infertility: a systematic review; *Human Reproduction*; 26 (8): 1971–1980

Twig G, Shina A, Amital H, Shoenfeld Y. (2012); Pathogenesis of infertility and recurrent pregnancy loss in thyroid autoimmunity. *J Autoimmun*; 38:J275–J281.

Winger, J.L. Reed. (2008); Treatment with tumor necrosis factor inhibitors and intravenous immunoglobulin improves live birth rates in women with recurrent spontaneous abortion Am. J. reprod. Immunol; 60 (1): 8–16

Winger, J.L. Reed, S. Ashoush, S. Ahuja, T. El-Toukhy, M. Taranissi. (2009); Treatment with adalimumab (Humira) and intravenous immunoglobulin improves pregnancy rates in women undergoing IVF Am. J. Reprod. Immunol.; 61 (2): 113–120

Woelfer B, Salim R, Banerjee S, Elson J, Regan L, Jurkovic D. (2001); Reproductive outcomes in women with congenital uterine anomalies detected by three-dimensional ultrasound screening. Obstet Gynecol; 98: 1099–103.

Yokota A, Nakai A, Oya A, Koshino T, Araki T. (2000); Changes in the uterine and ovarian arterial impedance during the periovulatory period in conception and non conception cycles. J Obstet gynecol Res; 26: 435–40.

